# 玉米核雄性不育的分子机理研究与应用分析*

柳双双[1,2,3#] 吴锁伟[1,2#] 饶力群[1] 万向元[1,2,3**]

（1 湖南农业大学 生物科学技术学院，长沙 410128；2 北京科技大学 生物前沿技术与应用研究中心、化学与生物工程学院、平谷生物农业研究院，北京 100024；3 北京首佳利华科技有限公司 主要作物生物育种北京市工程实验室、生物育种北京市国际科技合作基地，北京 100192）

**摘 要** 玉米细胞核雄性不育突变体是研究花粉发育和减数分裂的理想材料，也是杂种优势利用的重要种质资源。随着分子生物技术的快速发展，部分玉米细胞核雄性不育基因陆续被成功克隆，为其在工程不育化杂交种生产中的应用奠定了基础。本文综述了近年来对玉米细胞核雄性不育的细胞学鉴定、基因克隆和分子机理的研究进展，并对其应用途径和前景进行了分析。

**关键词** 玉米、细胞核雄性不育、基因克隆、分子机理、杂种优势利用

**中图分类号** Q785

---

*国家自然科学基金项目（31771875）、国家重点研发计划项目（2017YFD0102001, 2017YFD0101200）、国家国际科技合作项目（2015DFA30640）、国家科技支撑计划项目（2014BAD01B02）、中央高校基本科研业务费专项资金资助项目（06500060）、国家“万人计划”科技创新领军人才特殊支持经费、北京市科技计划项目（Z161100000916013）资助。

#柳双双、吴锁伟为同等贡献第一作者

**通讯作者，电子信箱：wanxiangyuan@ustb.edu.cn

植物雄性不育（male sterility, MS）是指在高等植物中，雄性器官发育异常，不能产生有功能的雄配子（花粉），但雌性器官发育正常，能接受正常雄配子而受精结实，并能将该不育性遗传给后代的现象。高等植物的花粉发育，受到大量基因的协同表达调控，其中某个基因的结构或功能发生突变，都可能导致雄性不育现象。目前在玉米中已经发现 200 多个细胞核雄性不育突变体[1]，但是仅有十多个细胞核雄性不育基因被克隆，大部分细胞核雄性不育基因及其作用机制尚不清楚。

玉米是雌雄同株异花作物，拥有独立的雄花器官和非常规律的花粉发育进程，是研究花粉发育和减数分裂的理想材料。花粉发育的整个过程在花药中完成。成熟的玉米花药有 4 个花粉囊，每个花粉囊都由 4 层细胞（由外至内分别是表皮层、内皮层、中间层和绒毡层）组成的药室壁和 1 个药室构成，药室壁包围着花粉母细胞。花粉母细胞经过减数分裂产生小孢子，最终发育成为成熟的花粉粒。玉米花粉发育进程，大概可以分为 6-11 个不同发育时期，分别是：减数分裂前期（包括花药原基期、前胼胝质期、中胼胝质期）、减数分裂期（包括减数分裂期和四分体期）、单核小孢子期（可细分为前期、中期、后期）、花粉第一次有丝分裂期（或幼龄花粉期）、花粉第二次有丝分裂期（近成熟花粉期）和成熟花粉期[2]。花粉发育是在营养组织（孢子体花药壁组织）和生殖组织（雄配子体）的协同作用下完成的，在此过程中由于任一环节器官发育的异常，都可能导致雄性不育。细胞核雄性不育是由于核基因突变导致的花粉败育现象。玉米参与调控花粉发育的基因预计有 33000 个以上，影响花粉发育的各个阶段。因此，玉米核雄性不育突变体的发现、细胞学鉴定和基因克隆，有助于解析玉米花粉发育的细胞学和分子遗传学机制。同时，雄性不育应用于玉米杂交制种中，可以免除人工或机械去雄、降低制种成本、提高制种纯度和产量，具有非常重要的应用价值。

## 1. 玉米细胞核雄性不育突变体的发现和细胞学分析

自从 1921 年 Eyster 首次发现的玉米无花粉型雄性不育突变体 *ms1* 以来，已经有超过 40 个不同的雄性不育突变体被陆续发现、鉴定和命名（表 1），其中除 *Ms41*、*Ms42* 和 *Ms44* 三个显性核不育突变体之外，其它都是隐性核不育突变体 (MaizeGDB, www.maizegdb.org)。近年来，国内外研究者通过辐射诱变、EMS 诱变、转座子插入等途径，又创造出了一批新的玉米隐性核不育突变体[1,3,4]，进一步丰富了玉米细胞核雄性不育基因的种质资源。

**表 1 玉米细胞核雄性不育突变体及其染色体定位**

**Table1 Maize genetic male-sterile mutants and their chromosome locations**

| 序号 No. | 突变体 Mutants | 染色体位置 Chr. sites | 参考文献 References | 序号 No. | 突变体 Mutants | 染色体位置 Chr. sites | 参考文献 References |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *ms1* | 6L | [5-7] | 22 | *ms26* | 1S | [24,25] |
| 2 | *ms2* | 9L | [5,7] | 23 | *ms28* | 1S | [26] |
| 3 | *ms3* | 3L | [8] | 24 | *ms29* | 10S | [27] |
| 4 | *ms5* | 5L | [5] | 25 | *ms30* | 4L | [28,29] |
| 5 | *ms7* | 7L | [5,9-11] | 26 | *ms31* | 2L | [28] |
| 6 | *ms8* | 8L | [5,12-14] | 27 | *ms32* | 2L | [30] |
| 7 | *ms9* | 1S | [5,9,15] | 28 | *ms33* | 2L | [31,32] |
| 8 | *ms10/apv1* | 10L | [4,5,9] | 29 | *ms34* | 7L | [33] |
| 9 | *ms11* | 10L | [5,9,16] | 30 | *ms36* | 9L | [34] |
| 10 | *ms12* | 1L | [5,9] | 31 | *ms37* | 3L | [35] |
| 11 | *ms13* | 5S | [5,9,15] | 32 | *ms38* | 2L | [36] |
| 12 | *ms14* | 1S | [5,9,17] | 33 | *Ms41* | 4L | [37] |
| 13 | *ms17* | 1S | [5] | 34 | *Ms42* | 5S | [38] |
| 14 | *ms18* | 1 | [18] | 35 | *ms43* | 8 | [26] |
| 15 | *ms19* | 9 | [18] | 36 | *Ms44* | 4L | [37,39] |
| 16 | *ms20* | ND | [18] | 37 | *ms45* | 9L | [40] |
| 17 | *ms21* | 6 | [19] | 38 | *ms47* | 10S | [41] |
| 18 | *ms22/msca1* | 7S | [20,21] | 39 | *ms48* | 9L | [42] |
| 19 | *ms23* | 8S | [22] | 40 | *ms49* | 10 | [43] |
| 20 | *ms24* | 10S | [23] | 41 | *ms50* | 6L | [44] |
| 21 | *ms25* | 9 | [24] | 42 | *ms52* | 10 | [45] |

目前，已经完成细胞学初步鉴定的玉米细胞核雄性不育突变体包括：*ms1*、*ms2*、*ms5*、*ms7*、*ms8*、*ms9*、*ms10/apv1*、*ms11*、*ms12*、*ms13*、*ms14*、*ms17*、*ms22/msca1*、*ms23*、*ms25*、*ms26*、*ms30*、*ms32*、*csmd1*、*mac1*、*ocl4*、*ipe1* 等。按照突变体细胞学缺陷发生的花粉发育时期，大致分为如下三类：（1）减数分裂前突变体：包括 *ms8*[5,12-14]，*ms9*[5,9,15]，*ms22/msca1*[20,21]，*ms23*[22]，*ms32*[30]，*ocl4*[46]和 *mac1*[47]等。其中，*ms8* 和 *ms9* 的花粉母细胞发育异常，它们主要在小孢子发育的早期起作用[5]；在 *ms23* 和 *ms32* 中，花粉母细胞降解发生在减数分裂初期，绒毡层细胞不能正常分化，导致产生没有功能的 5 层细胞的花药壁[22,30]。在 *ms22/msca1* 突变体中，花药发育更为极端，花药细胞层分化不正常，伴随着表皮细胞、薄壁细胞和无功能的维管束上有气孔发现[21]。*ocl4* 突变体显示减数分裂前的花药细胞壁发育异常，在花药壁表皮下存在额外的类似于内皮层的细胞层数，导致部分雄性不育[46]。*mac1* 突变体的花粉囊中，在绒毡层分化前由于孢子细胞分裂增殖过快，含有过量的孢子细胞[47]。（2）减数分裂突变体：包括 *ms5*[5]、*ms11*[5,9,16]、*ms14*[5,9,17]和 *ms17*[5]等。其中，*ms5*、*ms11*、*ms14* 突变发生在小孢子发育的减数分裂期；*ms17* 突变体影响纺锤体的形成[5]。（3）减数分裂后突变体：包括 *ms1*[5-7]，*ms2*[5,7]，*ms7*[5,9-11]，

*ms10/apv1*[4], *ms12*[5,9], *ms13*[5,9,15]，*ms25*[24]，*ms26*[24,25]，*ms30*[28,29,49]，*csmd1*[48]，*ipe1*[3]等。其中，*ms1* 的显著特征在于异常加厚的小孢子壁；*ms2* 和 *ms7* 的小孢子壁发育较差，绒毡层细胞发育异常；*ms10/apv1* 和 *ms13* 的小孢子壁厚度仅相当于正常小孢子壁的一半；*ms12* 小孢子壁发育正常，但是细胞核降解；*ms25*、*ms26* 突变体的共同特征是花药壁发育异常，小孢子从四分体释放后都快速降解，但是它们的绒毡层细胞表现迥异：*ms25* 绒毡层细胞中聚集大量的脂质体，而 *ms26* 绒毡层细胞表现为高度液泡化。对于 *ms30* 花药发育的超微结构观察表明，在花粉发育的前期如减数分裂到四分体时期，*ms30* 不育株花粉发育未见异常。花粉母细胞能完成减数分裂，并形成正常的小孢子，在小孢子继续发育、花粉壁特化的过程中可见明显差异。和可育株花粉壁的连续、厚度均匀相比，不育株花粉外壁的基层形态表现为不连续、不完整，从而导致小孢子内部结构破坏，细胞器和细胞质降解变空，可能是缺少某种结构性功能蛋白质引起的[49]。*csmd1* 突变体表现为减数分裂前的孢子体缺陷和减数分裂后的配子体和孢子体缺陷[48]。*ipe1* 突变体表现为异常的花粉外壁发育，IPE1 参与调控花药角质层和花粉外壁的形成[3]。

Timofejeva 等[1]对 244 个玉米雄性核不育突变体进行了细胞学分析和等位性测验。最后发现了 42 个新雄性核不育突变体，包括 22 个减数分裂前突变体、7 个减数分裂后突变体和 13 个减数分裂突变体。同时，等位性测验发现了 4 个减数分裂前突变体（*msca1*、*ms32*、*ms8* 和 *ocl4*）的新等位变异和减数分裂后突变体（*ms45*）的 2 个新等位变异。此外，Timofejeva 等[1]将减数分裂前突变体进一步划分为四类：花药特性缺陷型、花药结构缺陷型、花药壁细胞层数缺陷型、细胞壁成熟前降解型（详见表 2），这为玉米花药发育的细胞学分析提供了参考依据。

**表 2 玉米核雄性不育突变体的细胞学分类**

**Table 2 Classification of genetic male-sterile mutants in maize**

| 类 型（Group） | 表 型（Phenotype） | 突变体（Mutants） |
|---|---|---|
| 1、花药特性缺陷型 | （1）小花中的花药缺失 | *ms-si*355, ems71990* |
| | （2）花粉囊细胞未分化 | *msca1-ems63131, msca1-ms6064* |
| 2、花药结构缺陷型 | 二室花药 | *vlo-ems71924, vlo-ems72032* |
| 3、花药壁层数缺陷型 | （1）细胞层未分化 | *ems63089, mtm00-06, tcl1, ems72063* |
| | （2）下表皮细胞超分化 | *ocl4-mtm99-66* |
| | （3）中间层细胞超分化 | *ems72091* |
| | （4）绒毡层细胞超分化 | *ms*6015, ms32, ms32-ms6066, ms23, ems72063* |
| | （5）多核绒毡层细胞 | *ems63265, ems71777, RescueMu-E03-23* |
| 4、细胞壁成熟前降解型 | **4.1 花药形态改变** | |
| | （1）性母细胞与绒毡层降解 | *ms8, ms8-mtm99-56, RescueMu-A60-22b, ems71884, ems64486* |
| | （2）绒毡层液泡化降解 | *ems71787, RescueMu-P19-47* |
| | （3）绒毡层细胞皱缩降解 | *ems71986, RescueMu-C17-32, RescueMu-A60-35A* |
| | **4.2 功能缺陷** | |
| | （1）胼胝质不沉积 | *ms10* |

| | |
|---|---|
| （2）胼胝质累积 | *ms45-msN2499, ms45-ems64409, csmd1, ms8, ms8-mtm99-56* |

## 2. 玉米细胞核雄性不育基因的克隆与分子机理研究进展

随着分子生物学技术的快速发展和玉米全基因组测序的完成，多种基于 DNA 序列多态性和 PCR 技术的分子标记定位方法，如 SSR、Indel、CAPS、SNP 等，已经成为基因定位的主要研究方法，并被广泛应用于玉米雄性不育基因的定位克隆研究。

据不完全统计，已完成克隆和功能分析的玉米核不育基因至少有 16 个（表 3）。

（1）本实验室共完成 4 个玉米核不育基因的图位克隆和功能分析：*ms1*、*ms7*、*ms30* 和 *ms33*。其中，*ms1* 基因编码一个 LBD 类转录因子，参与调控玉米小孢子壁的发育[6]；*ms7* 基因编码一个 PHD-finger 类转录因子，是拟南芥 *Ms1* 和水稻 *PTC1* 的同源基因，参与调控玉米的花粉发育[11]；*ms30* 基因编码一个 GDSL 脂肪酶（GDSL-lipase），参与调控玉米花药外壁和角质层的脂质代谢[29]；*ms33* 基因编码一个 GPAT 蛋白，也参与调控玉米花药外壁的脂质代谢和花药角质层的[32]。

（2）美国斯坦福大学的 Walbot 实验室共完成 3 个玉米核不育基因的克隆和功能分析：*ms8*、*ms23* 和 *ms32*。其中，*ms8* 基因编码一个β-1,3-半乳糖基转移酶蛋白，可以与阿拉伯半乳糖蛋白（AGP）、生物素 2、生物素 4、线粒体外膜孔蛋白以及 ATP 酶复合体第 1 亚基等蛋白互作，参与花药早期物质合成、绒毡层细胞程序性死亡调控和线粒体代谢等过程[14]。*ms23* 与 *ms32* 基因分别编码一个 bHLH 类转录因子，在减数分裂前期的花药中特异表达，主要调节花粉发育过程中绒毡层细胞和中层细胞的分裂和分化。在 *ms23* 和 *ms32* 突变体中绒毡层前体细胞不进行分化而是通过平周分裂形成绒毡层以外的其它细胞，这些细胞不断扩张并且液泡化，最终导致花粉母细胞败育[22,30]。

（3）美国杜邦先锋公司共完成 5 个玉米核不育基因的克隆和功能分析：*ms9*、*ms22*、*ms26*、*Ms44* 和 *ms45*。其中，*ms9* 基因编码一个植物特异的 R2/R3 MYB 类转录因子[15]，参与调控玉米花粉发育，具体作用分子机制尚不清楚。*ms22/msca1* 基因编码一个谷氧还蛋白（GRX），*ms22* 突变体缺乏孢原细胞，花药细胞形态分化成类似叶片细胞[20,21]。*ms26* 基因编码一个细胞色素 P450 家族蛋白，是拟南芥 *CYP704B1* 基因的同源基因，该基因编码的蛋白属于长链脂肪酸ω-羟化酶，该酶可以参与合成花粉发育过程所需的孢粉素和一些生物大分子单体物质。因而，*ms26* 突变后由于长链脂肪酸合成受阻导致花粉外壁无法正常发育[24,25]。*ms45* 基因编码一个异胡豆苷合成酶类似蛋白，可能参与生物碱合成途径。该基因突变后导致花粉外壁不能正常形成，最终花粉败育[40]。但是，*ms45* 调控花粉发育的分子机制尚不清楚。与上述隐性核雄性不育基因不同的是，*Ms44* 是一个显性核雄性不育基因，编码一个脂质转移蛋白，该基因的突变不仅

引起显性核雄性不育，而且可以改善玉米的氮利用率，在玉米生产中具有重要应用价值[39]。

（4）其他实验室完成的 4 个玉米核不育基因的克隆和功能分析：*ocl4*、*mac1*、*ipe1* 和 *ms10/apv1*。法国里昂大学的 Rogowsky 实验室克隆的 *ocl4* 基因编码一个 HD-ZIP 类转录因子，OCL4 调控毛状体的发育和花药细胞壁的分裂和分化[46]。美国加州大学伯克利分校的 Cande 实验室克隆的 *mac1* 基因编码一个小的分泌蛋白，是拟南芥 TPD1 和水稻 TDL1A 的同源基因，主要调控花药发育早期的孢子细胞的分裂增殖[47]。中国农业大学金危危实验室克隆的 *ipe1* 基因编码一个 GMC 氧化还原酶，与 *ms26*、*ms45*、*apv1* 共同参与调控花药角质层和花粉外壁的合成[3]。中科院遗传与发育生物学研究所的陈化邦实验室克隆的 *ms10/apv1* 与 *ms26* 类似，也编码一个细胞色素 P450 家族蛋白，是拟南芥 *CYP703B2* 基因的同源基因，作用机制也与 *ms26* 类似，参与合成花粉发育过程所需的孢粉素和一些生物大分子单体物质[4]。

**表 3 已经克隆的玉米核雄性不育基因**

**Table 3 The genic male sterility genes that has been cloned in maize**

| 序号<br>No. | 基因名称<br>Gene name | 基因模型<br>Gene model | 编码蛋白<br>Coded proteins | 参考文献<br>References |
|---|---|---|---|---|
| 1 | *ms1, male sterility1** | GRMZM2G180319 | LOB/LBD protein 30 | [6] |
| 2 | *ms7, male sterility7** | GRMZM5G890224 | PHD-finger protein | [11] |
| 3 | *ms8, male sterility8* | GRMZM2G119265 | Beta-1,3-galactosyltransferase | [14] |
| 4 | *ms9, male sterility9* | GRMZM2G308204 | MYB transcription factor | [15] |
| 5 | *ms22/msca1, male sterile converted anther1* | GRMZM2G442791 | Glutaredoxin | [21] |
| 6 | *ms23, male sterility23* | GRMZM2G021276 | bHLH transcription factor | [22] |
| 7 | *ms26, male sterlity26* | ZEMMB73_004940 | Cytochrome P450 monooxygenase,CYP704B1 | [24] |
| 8 | *ms30, male sterility30** | GRMZM2G174782 | GDSL esterase/lipase protein | [29] |
| 9 | *ms32, male sterility32* | GRMZM2G163233 | bHLH transcription factor | [30] |
| 10 | *ms33, male sterility33** | GRMZM2G070304 | GPAT protein | [32] |
| 11 | *Ms44, male sterility44* | AC225727.3_FGT003 | Type C non-specific lipid transfer protein | [39] |
| 12 | *ms45, male sterility45* | GRMZM2G139372 | Strictosidin synthase | [40] |
| 13 | *Ocl4, outer cell layer4* | GRMZM2G123140 | HD-ZIP transcription factor | [46] |
| 14 | *mac1, multiple archesporial cells1* | GRMZM2G027522 | Small secreted protein legend | [47] |
| 15 | *ipe1, irregular pollen exine1* | GRMZM2G434500 | GMC oxidoreductase | [3] |
| 16 | *apv1, abnormal pollen vacuolation1* | GRMZM2G830329 | Cytochrome P450 monooxygenase,CYP703A2 | [4] |

*注：*ms1*、*ms7*、*ms30* 和 *ms33* 是本实验室克隆的玉米隐性核雄性不育基因。

## 3. 玉米细胞核雄性不育基因的应用分析

随着分子生物学的发展，部分细胞核雄性不育基因及其作用分子机理得到解析，为通过转基因的方法恢复和保持细胞核雄性不育系的育性奠定了基础。最先用到的策略是利用诱导型启动子驱动的育性恢复基因（*Ms*）转化隐性核不育系[50]。诱导性调控元件是能够应答于诱导剂直接或间接激活下游基因表达的 DNA 序列。当不存在诱导剂时，目标基因（*Ms*）不能被转录，因此育性恢复基因编码的蛋白质（Ms）以非活性形式存在，转基因植株表现为不育系性状；当存在诱导剂时，目标基因（*Ms*）被转录激活，因此目标蛋白（Ms）转化为有功能的活性形式，转基因植株表现为雄性可育的保持系性状，可以自交结实。这里的诱导剂可以是化学试剂，如蛋白质、代谢产物、生长调控因子、除草剂等，也可以通过热、冷、盐或毒性元素施加的生理胁迫等，主要取决于所用的诱导性调控元件类型[50,51]。

近年来，美国杜邦先锋公司发明了一种新型杂交种子生产技术体系—SPT（Seed production technology）技术，综合利用了转基因技术、荧光蛋白筛选技术和花粉失活技术策略，有效地解决了玉米隐性核雄性不育系的保持和繁殖问题[52]。其设计思路是利用现代生物技术，将玉米花粉育性恢复基因、花粉自我降解基因和红色荧光蛋白标记基因组合在一起，构建遗传转化载体，通过转基因技术，导入到玉米隐性核雄性不育系中，从而恢复不育系的育性并能有效繁殖，实现一系两用的目的。该转基因株系自交后，产生 50%的不育系种子（非红色荧光种子）和 50%的保持系种子（红色荧光种子），通过机械色选技术有效地将这两部分种子分离，正常颜色种子可以繁殖为不育系，用于玉米杂交育种和杂交制种；红色荧光种子自交产生其本身和正常颜色不育系种子。SPT 技术已经在美国产业化应用，其不育系和杂交种产品已经被美国、日本、澳大利亚解除转基因管制[52]。最近，通过显性核不育基因 *Ms44* 的克隆，先锋公司改造了 SPT 技术，使其同样能够繁殖和保持显性核雄性不育系，在玉米杂交种生产中具有重要应用价值[39]。

最近，我们实验室在 SPT 技术基础上，基于玉米 *ms7* 突变体和 *ZmMs7* 基因，研制了一种新型“玉米多控不育”技术体系[11]。利用两个花粉自我降解基因（*ZmAA* 和 *Dam*）控制转基因花粉不传递，降低基因漂移风险，同时增加了一个除草剂基因（*Bar*），有效保障转基因保持系和非转基因不育系制种的高纯度，有望培育出 100%非转基因的玉米多控不育系，建立一套基于多控不育系的高效玉米杂交育种和制种技术体系，提高玉米杂种优势利用率，为我国玉米种业乃至国家粮食安全提供技术支撑。

## 4. 结语与展望

玉米细胞核雄性不育材料是一种优异的种质资源，但是由于纯合细胞核雄性不育系通过传

统育种方法无法繁殖和保持等问题，这类材料在实际生产上很少利用。随着现代生物技术的快速发展，越来越多玉米细胞核雄性不育基因被成功克隆，为分子设计创制稳定的玉米核雄性不育系奠定了技术基础。需要指出的是，虽然最近玉米细胞核雄性不育基因克隆取得了快速进展，但是相对于模式植物拟南芥和水稻的相关研究而言，玉米细胞核雄性不育基因研究相对薄弱，玉米核雄性不育和花粉发育的分子机理和遗传网络尚待进一步深入研究。可以借助比较基因组学研究和定点突变技术（如CRISPR-Cas9等）[53-55]，利用反向遗传学方法[56]，快速克隆已知的拟南芥和水稻雄性不育相关基因的玉米同源基因，以加快玉米核雄性不育基因调控花粉发育的遗传网络和分子机理的研究。

## 参考文献


[1] Timofejeva L, Skibbe D S, Lee S, et al. Cytological characterization and allelism testing of anther developmental mutants identified in a screen of maize male sterile lines. G3 (Bethesda), 2013. **3**(2): 231-49.

[2] Skibbe D S and Schnable P S. Male sterility in maize. Maydica, 2005. **50**: 367-376.

[3] Chen X, Zhang H, Sun H, et al. IRREGULAR POLLEN EXINE1 Is a Novel Factor in Anther Cuticle and Pollen Exine Formation. Plant Physiol, 2017. **173**(1): 307-325.

[4] Somaratne Y, Tian Y, Zhang H, et al. ABNORMAL POLLEN VACUOLATION1 (APV1) is required for male fertility by contributing to anther cuticle and pollen exine formation in maize. Plant J, 2017: doi: 10.1111/tpj.13476.

[5] Albertsen M C and Phillips R L. Developmental cytology of 13 genetic male sterile loci in maize. Can J Genet Cytol 1981. **23**: 195-208.

[6] 万向元,吴锁伟,周岩,等. 植物花粉发育调控基因 *Ms1* 及其编码蛋白, 中国发明专利, ZL201410381072.5, 2014

Wan X Y, Wu S W, Zhou Y, et al. The DNA sequence and the coded protein of Ms1 gene which controls the male fertility of plants. Chinese patent, ZL201410381072.5. 2014.

[7] Eyster L A. Heritable characters of maize. VII. Male sterile. J Hered, 1921. **12**: 138-141.

[8] Eyster W H. Heritable characters of maize XXXIX- Male sterile 3. Journal of Heredity, 1931. **22**: 117-119.

[9] Beadle G W. Genes in maize for pollen sterility. Genetics, 1932. **17**: 413-431.

[10] Morton C M, Lawson D L andBedinger P. Morphological study of the maize male sterile mutant ms7. Maydica, 1989. **34**: 239-245.

[11] Zhang D, Wu S, An X, et al. Construction of a multi-control sterility system for a maize male-sterile line and hybrid seed production based on the ZmMs7 gene encoding a PHD-finger transcription factor. Plant Biotechnol J, 2017. doi: https://doi.org/10.1111/pbi.12786.

[12] Wang D, Adams C M, Fernandes J F, et al. A low molecular weight proteome comparison of fertile and male sterile 8 anthers of Zea mays. Plant Biotechnol J, 2012. **10**(8): 925-35.

[13] Wang D, Oses-Prieto J A, Li K H, et al. The male sterile 8 mutation of maize disrupts the temporal progression of the transcriptome and results in the mis-regulation of metabolic functions. Plant J, 2010. **63**(6): 939-51.

[14] Wang D, Skibbe DS and Walbot V. Maize *Male sterile 8 (Ms8)*, a putative β-1,3-galactosyltransferase, modulates cell division, expansion, and differentiation during early maize anther development. Plant Reprod, 2013. **26**(4): 329-338.

[15] Albertsen M, Fox T, Leonard A, et al. Cloning and use of the *ms9* gene from maize. US patent US20160024520A1

2016.
[16] Kelliher T, Egger RL, Zhang H, et al. Unresolved issues in pre-meiotic anther development. Front Plant Sci, 2014. **5**: 347.
[17] 余自青，吴锁伟，张丹凤，等. 玉米隐性核不育突变体 ms14 的遗传分析与基因定位. 中国生物工程杂志，2016. **36**(10): 8-14.
Yu Z Q, Wu S W, Zhang D F, et al. Genetic Analysis and Gene Mapping of Recessive Genic Male Sterility14 (ms14) mutant in maize. China Biotechnology, 2016. **36**(10): 8-14.
[18] Eyster W H. Genetics of Zea mays. Bibliographia Genetica, 1934. **11**:187-192.
[19] Schwartz D. The Interaction of Nuclear and Cytoplasmic Factors in the Inheritance of Male Sterility in Maize. Genetics, 1951. **36**(6): 676-96.
[20] Albertsen M C, Fox T, Trimnell M, et al. *Msca1* nucleotide sequences impacting plant male fertility and method of using same. US patent US20090038027A1. 2009.
[21] Chaubal R, Anderson J R, Trimnell M R, et al. The transformation of anthers in the msca1 mutant of maize. Planta, 2003. **216**(5): 778-88.
[22] Nan G L, Zhai J, Arikit S, et al. MS23, a master basic helix-loop-helix factor, regulates the specification and development of the tapetum in maize. Development, 2017. **144**(1): 163-172.
[23] Fox T, Trimnell M R and Albertsen M C. Male-sterile mutant ms24 mapped to chormosome 10. Maize Genet Coop Newsletter, 2002. **76**: 37.
[24] Djukanovic V, Smith J, Lowe K, et al. Male-sterile maize plants produced by targeted mutagenesis of the cytochrome P450-like gene (MS26) using a re-designed I-CreI homing endonuclease. Plant J, 2013. **76**(5): 888-99.
[25] Loukides C A, Broadwater A H and Bedinger P A. Two new male-sterile mutants of Zea mays (Poaceae) with abnormal tapetal cell morphology. American Journal of Botany, 1995. **8**: 1017-1023.
[26] Golubovskaya I N. Mapping of two mei-genes of maize wtih the help of B-A translocations. Soviet Genetics, 1987. **23**: 473-480.
[27] Trimnell M R, Fox T W, and Albertsen M C. New chromosome 10S male-sterile mutant: *ms29*. Maize Genet Coop Newsletter, 1998. **72**: 37.
[28] Trimnell M R, Fox T W, and Albertsen M C. New chromosome 2L male-sterile mutants: ms30 and ms31. . Maize Genet Coop Newsletter, 1998. **72**(38).
[29] 万向元，吴锁伟，周岩，等.一种玉米花粉减数分裂后发育调控基因 Ms30 的 DNA 序列及其编码蛋白，中国发明专利，ZL201410703778.9，2014
Wan X Y, Wu S W, Xie K, et al. The DNA sequence and the coded protein of a pollen post-meiotic developmental gene Ms30 in maize. Chinese patent, ZL201410703778.9, 2014.
[30] Moon J, Skibbe D, Timofejeva L, et al. Regulation of cell divisions and differentiation by MALE STERILITY32 is required for anther development in maize. Plant J, 2013. **76**(4): 592-602.
[31] Trimnell M R, Patterson E, Fox T W, et al. New chromosome 2L male-sterile mutant: *ms33* and alleles. Maize Genet Coop Newsletter, 1999. **73**: 48.
[32] 万向元，吴锁伟，张丹凤，等.玉米花粉发育调控基因 Ms33 的 DNA 序列及其编码蛋白，中国发明专利，CN201610880590.0，2016
Wan X Y, Wu S W, Zhang D F, et al. The DNA sequence and the coded protein of a pollen developmental gene Ms33 in maize. Chinese patent, CN201610880590.0，2016.
[33] Trimnell M R, Patterson E, Fox T W, et al. New chromosome 7L male-sterile mutant: *ms34*. Maize Genet Coop Newsletter, 1999. **73**: 49.
[34] Trimnell M R, Patterson E, Fox T W, et al. New chromosome 9L male-sterile mutants: *ms35* and *ms36*. Maize Genet Coop Newsletter, 1999. **73**: 49.

[35] Trimnell M R, Fox T W, and Albertsen M C. New chromosome 7L male-sterile mutant: *ms37*. Maize Genet Coop Newsletter, 1999. **73**: 48.

[36] Albertsen M C, Fox T W, and Trimnell M R. Changing a duplicated designation for two different male-sterile mutations. Maize Genet Coop Newsletter, 1999. **73**: 48.

[37] Albertsen, M.C. and L.M. Sellner, An independent, EMS-induced dominant male sterile that maps similar to *Ms41*. Maize Genet Coop Newsletter, 1988. **62**: 70.

[38] Albertsen M C, Fox T W, Trimnell M R, et al. Interval mapping a new dominant male-sterile mutant, *Ms42*. Maize Genet Coop Newsletter, 1993. **67**: 64.

[39] Fox T, DeBruin J, Haug Collet K, et al. A single point mutation in Ms44 results in dominant male sterility and improves nitrogen use efficiency in maize. Plant Biotechnol J, 2017. **15**: 942-952.

[40] Cigan, A.M., E. Unger, R.J. Xu, *et al.*, Phenotypic complementation of *ms45* maize requires tapetal expression of MS45. Sex Plant Reprod, 2001. **14**: 135-142.

[41] Trimnell M R, Fox T W, and Albertsen M C. New chromosome 10 male-sterile mutant: *ms47*. Maize Genet Coop Newsletter, 2002. **76**: 38.

[42] Trimnell M R, Fox T W, and Albertsen M C. New chromosome 9L male-sterile mutant: *ms48*. Maize Genet Coop Newsletter, 2002. **76**: 38.

[43] Trimnell M R, Fox T W, and Albertsen M C. New chromosome 10 male-sterile mutant: *ms49*. Maize Genet Coop Newsletter, 2002. **76**: 38-39.

[44] Trimnell M R, Fox T W, and Albertsen M C. New chromosome 6L male-sterile mutant: *ms50*. Maize Genet Coop Newsletter, 2002. **76**: 39.

[45] Trimnell M R, Fox T W, and Albertsen M C. New chromosome 4 male-sterile mutant: *ms52*. Maize Genet Coop Newsletter, 2004. **78**: 27.

[46] Vernoud V, Laigle G, Rozier F, et al. The HD-ZIP IV transcription factor OCL4 is necessary for trichome patterning and anther development in maize. Plant J, 2009. **59**(6): 883-94.

[47] Wang C J, Nan G L, Kelliher T, et al. Maize multiple archesporial cells 1 (mac1), an ortholog of rice TDL1A, modulates cell proliferation and identity in early anther development. Development, 2012. **139**(14): 2594-603.

[48] Wang D, Skibbe D S, and Walbot V. Maize csmd1 exhibits pre-meiotic somatic and post-meiotic microspore and somatic defects but sustains anther growth. Sex Plant Reprod, 2011. **24**(4): 297-306.

[49] 李竞雄，周洪生，孙荣锦. 玉米雄性不育生物学. 1998，北京，中国农业出版社. 67-154
Li J, Zhou H, and Sun R. *Biology of Male Sterility in Maize*. 1998, Beijing: China Agriculture Press. 67-154.

[50] Cigan, A.M. and M.C. Albertsen, Reversible nuclear genetic system for male sterility in transgenic plants. 2001: US Patent US6281348B1

[51] Albertsen M C, Beach LR, Howard J, et al. Nucleotide sequences mediated male fertility and method of using same. 1995: United States Patent, US005478369A.

[52] Wu Y, Fox T W, Trimnell M R, et al. Development of a novel recessive genetic male sterility system for hybrid seed production in maize and other cross-pollinating crops. Plant Biotechnol J, 2016. **14**(3): 1046-54.

[53] Cigan A M, Singh M, Benn G, et al. Targeted mutagenesis of a conserved anther-expressed P450 gene confers male sterility in monocots. Plant Biotechnol J, 2017. **15**(3): 379-389.

[54] Svitashev S, Schwartz C, Lenderts B, et al. Genome editing in maize directed by CRISPR–Cas9 ribonucleoprotein complexes. Nature Communications, 2016. **7**: 13274.

[55] Gomez J F, Talle B and Wilson Z A. Anther and pollen development: A conserved developmental pathway. J Integr Plant Biol, 2015. **57**(11): 876-91.

[56] Fernández Gómez J and Wilson Z A. A barley PHD finger transcription factor that confers male sterility by affecting tapetal development. Plant Biotechnol J, 2014. **12**(6): 765-777.

# Molecular Mechanism and Application Analysis of Genic Male Sterility in Maize

LIU Shuang-shuang[1,2,3] WU Suo-wei[1,2] RAO Li-qun[1] WAN Xiang-yuan[1,2,3]

(1 College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(2 Advanced Biotechnology and Application Research Center, Institute of Biology and Agriculture, School of Chemistry and Biological Engineering, University of Science and Technology Beijing, Beijing, 100024, China.）

(3 Beijing Engineering Laboratory of Main Crop Bio-Tech Breeding, Beijing International Science and Technology Cooperation Base of Bio-Tech Breeding, Beijing Solidwill Sci-Tech Co. Ltd., Beijing, 100192, China)

**Abstract** Maize (*Zea mays L.*) genic male-sterile mutant has been widely studied for its biological significance on pollen developmental study and commercial value in hybrid vigor utilization. As the development of molecular biotechnology, several genic male-sterile genes has been cloned and characterized in maize, leading to potential use of genetic engineering male-sterility in commercial hybrid seed production. Here, we reviewed the progress of cytological characterization, gene cloning and molecular mechanism of genic male-sterility study in maize, and potential application approaches of genic male-sterile genes in maize hybrid production is discussed.

**Key words** *Zea mays*，Genic male sterility，Gene Cloning，Molecular mechanism，Hybrid vigor utilization